

대체육 향 분석을 위한 솔루션 I

: GERSTEL Twister 헤드스페이스법, ODP, AromaOffice 그리고 Agilent MPP

- Solution for alternative meat flavor analysis I

: GERSTEL Twister Headspace method, ODP, Aroma Office and Agilent MPP

문의전화 | 02-519-7300

대표메일 | channel@youngin.com

개요

저자

이수민 과장
응용개발팀
영인과학(주)

코로나 19 이후 국내 소비 시장에 가치소비 인식이 커지면서 대체육 시장도 가파르게 성장하고 있다. 시장조사기관 유로모니터는 '2022년 한국 대체육 시장 규모와 그 전망' 보고서에서 2022년 국내 대체육 시장 규모는 2021년 165억원 대비 28% 성장한 212억원 규모로 관측되며 2025년 대체육 시장은 321억원 규모가 될 것으로 전망된다고 밝혔다.

이렇듯 커져가는 한국을 포함한 전 세계 대체육 시장에서 가장 큰 비중을 차지하는 것은 식물성 대체육이다. 식물성 대체육은 콩이나 밀·버섯·호박 등 식물에서 추출한 단백질을 이용해 육류와 비슷한 형태와 맛·영양이 유사하게 제조된 식품이다.

한국농수산식품유통공사에서 실시한 소비자 인식조사(20년도)에서는 대체육 구매 시 고려요인으로는 맛 품질(63.1%), 가격(45.5%), 메뉴 다양성(43.4%) 순으로 나타나고 있어 맛과 품질이 가장 중요한 구매 결정요인으로 나타나고 있다. 트렌드 분석 결과, 아직 국내의 소비자들은 일반육에 비해 대체육이 비싸고, 맛과 풍미가 떨어진다는 인식이 있었다. 따라서 대체육의 맛과 풍미는 매우 중요한 요소임을 알 수 있다.

조리된 일반육과 대체육의 향미는 섭취 전과 섭취하는 동안에 코에 의해 직접적으로 맡게 된다. 날고기에는 거의 향미가 없지만, 조리를 하면서 향미 특성을 나타내게 된다. 조리된 일반육과 대체육에서는 다양한 휘발성 향 성분이 검출될 수 있다. 이전 연구에 따르면, 일반육에서는 Aldehyde류, Ketone류, Pyrazine류, Sulfur & Nitrogen 함유 성분들이 검출된다고 알려져 있다. 알데하이드류는 지방산에서 유래하여 fatty 향, ketone류는 과일 향, 쿼퀴한 냄새, 자극적인 냄새, pyrazine는 밥 냄새, 굽는 향 등, Sulfur & Nitrogen 함유성분들은 양파, 고기 향을 나타낸다고 보고되었다.

이전 연구에 따르면, 대체육은 재료에 따라 다양한 향미 특징을 보이고 고기 그리고 허브와 같은 향미 뿐만 아니라 곡물내, 짠 향을 갖는다. 대체육은 소고기, 닭고기 및 돼지고기와 비교하였을 때 총 휘발성 물질 농도가 더 높았다. 전반적으로 2-pentylfuran, D-Limonene은 대체육에서 많이 검출되고 있다. 특히, 일반육에 비해 2-pentylfuran의 농도가 더 높다는 것은 콩류가 재료로 사용되었음을 알 수 있다. D-Limonene은 많은 허브와 향신료에 존재하며 대체육에 말린 허브를 첨가하는 지표로서 활용이 가능하다.

이렇듯 일반육과 대체육의 향 비교 분석은 대체육 연구에 중요한 부분을 차지하고 있다. 본 실험에서는 일반육과 대체육의 향 비교 프로파일링을 위해 GERSTEL사 MPS Robotic 자동 전처리 시스템을 활용한 Twister는 헤드스페이스법을 사용하여 GC-O-MS를 통해 분석을 진행하였다. 보다 정확한 데이터 처리를 위해 GC-O-MS 분석 후 GERSTEL AromaOffice, Agilent MPP를 활용하여 향 성분을 프로파일링하였다.



실험 방법

실험기기

전처리 기기:

GERSTEL MPS Robotic, TDU/CIS

분석 기기:

Agilent 7890BGC/5977B MSD

GERSTEL Olfactometry Detection Port (ODP)



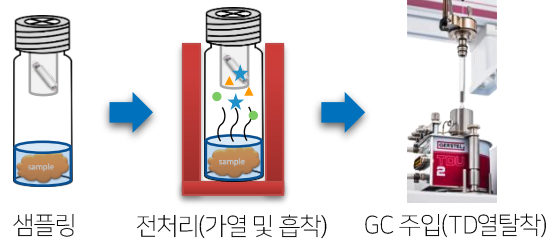
<그림 1> GERSTEL MPS-TDU/CIS, ODP on Agilent GC/MSD

시료 전처리 및 분석 과정

3개사 (A, B, C) 일반육과 대체육 시료는 햄박스테이크 패티로 지정하여 일반 상점에서 구입하였다. 시료 준비는 냉동된 시료를 해동 후 160°C에서 20분간 오븐에 구워준 후, 20ml Vial에 잘게 자른 시료 3g과 NaCl 포화용액 4ml를 넣어주었다. 시료 전처리는 GERSTEL MPS를 활용하여 Twister를 헤드스페이스에 띄워 추출 농축하는 방식으로 전처리 하였다. 시료를 넣은 20ml 바이알의 헤드스페이스 부분에 Insert를 위치시킨 후, Twister 교반막대를 Insert에 넣은 후(HSSE법) 캡핑하고, 80°C에서 1시간 동안 흡착시켰다. 흡착 후, Twister를 빈 TDU Tube에 넣는다. TDU Tube는 Transport adaptor로 밀봉한 후, Twister 트레이에 놓는다 <그림 2>.

이 후 과정은 자동화로 TDU/CIS 열탈착 및 저온 트래핑 후 GC-O-MSD로 분석을 진행하였다. 이 때 GERSTEL ODP는 향/냄새 성분을 코로 검출하여 향 성분의 강도와 특징을 확인하고자 사용되었으며 본 실험에서는 여러 GC-O 기술 중 Direct intensity법(직접강도법)으로 수행하였다.

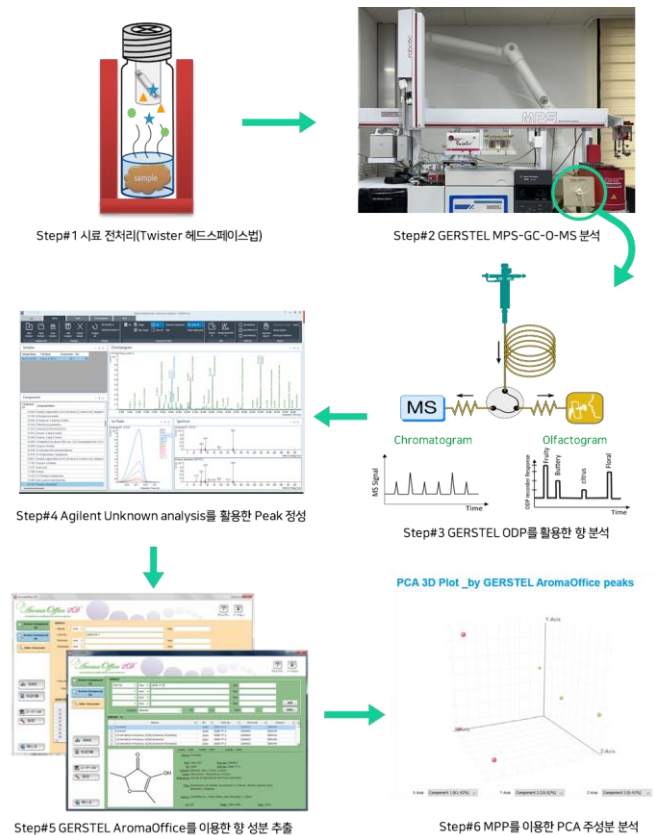
데이터 처리는 Agilent MassHunter Unknown Analysis로 검출 성분을 확인한 뒤, GC Chromatogram과 Olfactogram (ODP 크로마토그램)을 Overlay하여 RT별 향 특성 및 강도를 확인하였다.



<그림 2> 시료 전처리 모식도

또한 GERSTEL AromaOffice 소프트웨어를 활용하여 향 성분 및 냄새 특성을 확인하였으며, 이 때 RI값 계산을 위해 n-Paraffin(C₈-C₂₀)을 동일 조건으로 GC-O-MS로 분석하였다. GERSTEL AromaOffice는 향 성분 10만개 이상 정보를 데이터베이스화한 소프트웨어로 이를 활용해 검출된 향 성분들의 RI, Area, 냄새 특성 등 검색이 가능하다. 분석 조건과 동일 조건으로 n-Paraffin으로 RI값 세팅 후 AromaSearch를 하면 전반적인 향 성분을 Profiling 할 수 있다.

또한 대체육과 일반육에서 검출된 향 성분들이 유의적인 차이가 있는지 확인하기 위해 Agilent MPP를 활용하여 통계분석 역시 추가로 수행하였다 <그림 3>.

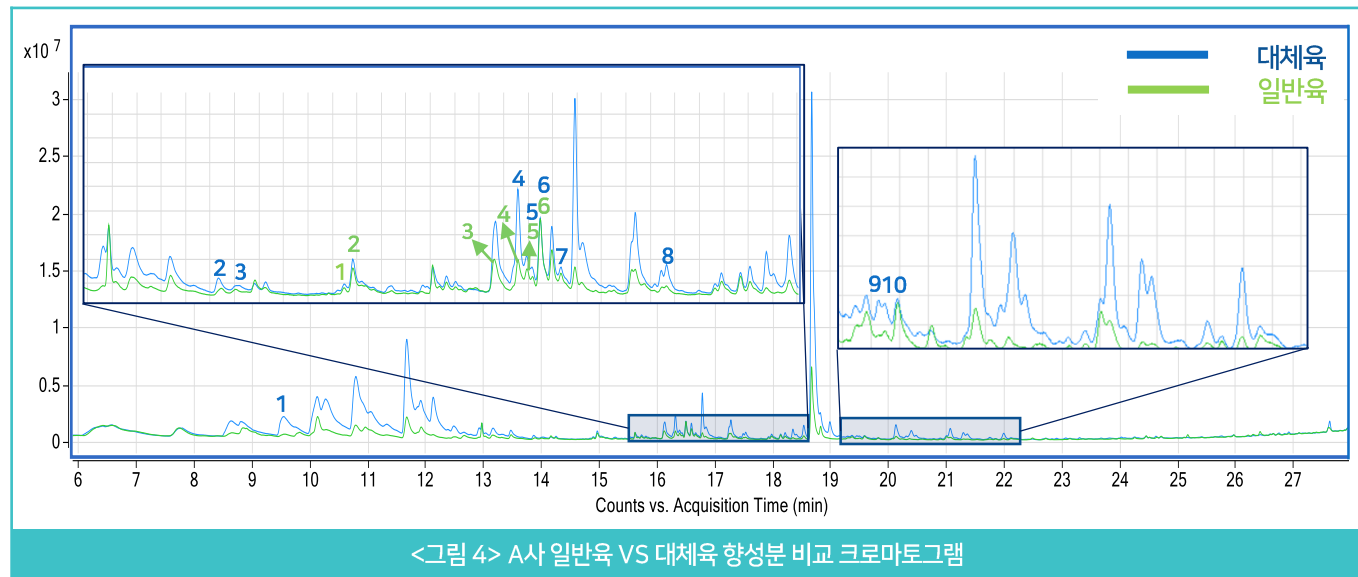


<그림 3> 향 분석을 위한 전반적인 Workflow

분석결과

본 실험에서는 Twister 헤드스페이스법, ODP, AromaOffice를 활용하여 3개사 일반육과 대체육의 향 비교 실험을 진행하였다. 모든 실험은 GC/MS로 확인된 모든 성분들 중 AromaOffice로 추가 매칭해 향 성분만을 추출하여 해당 성분 위주로 냄새를 맡았다.

A사 일반육 vs. 대체육 향 프로파일링 비교



<그림 4>를 보면, A사 분석하였을 때에는 6-13분대에서 일반육과 대체육의 분석결과 피크가 다른 양상을 보였다.

일반육의 경우, 검출된 성분들 중 51개의 향 성분들이 AromaOffice 소프트웨어를 통해 확인되었고, ODP를 통해 6개 성분에서 냄새가 검출되었다<표 1>.

GC-MS		AromaOffice		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	Tetradecane	1400	Gaseous	양파	3
2	Nonanal	1405	Stale		2
3	Furfural	1477	Potato		3
4	delta-Elemene	1489	Woody	시즈닝	3
5	2-Ethylhexanol	1493	Roasty		3
6	Diallyl disulfide	1500	Garlic		3

<표 1> A사 일반육 향 성분 리스트

일반육에서는 Tetradecane, Nonanal이 검출되었다. 두 성분은 신선하지 않고 퀴퀴한 냄새를 가지는 특징이 있으며, 양파 냄새로 검출되었다. 또한, Furfural, Delta-Elemene, Diallyl Disulfide이 검출되었고, ODP를 통해서서는 감자, 시즈닝 냄새로 감지 되었다. 2-ethylhexanol도 검출되었는데 주로 향료, 방향제와 같은 다양한 응용분야에 사용되고 있다. 식물, 과일, 와인에서 발견되며, 가볍고 달콤한 냄새가 나는 것으로 알려져 있으며, GERSTEL ODP를 통해 시즈닝냄새로 감지하였다.

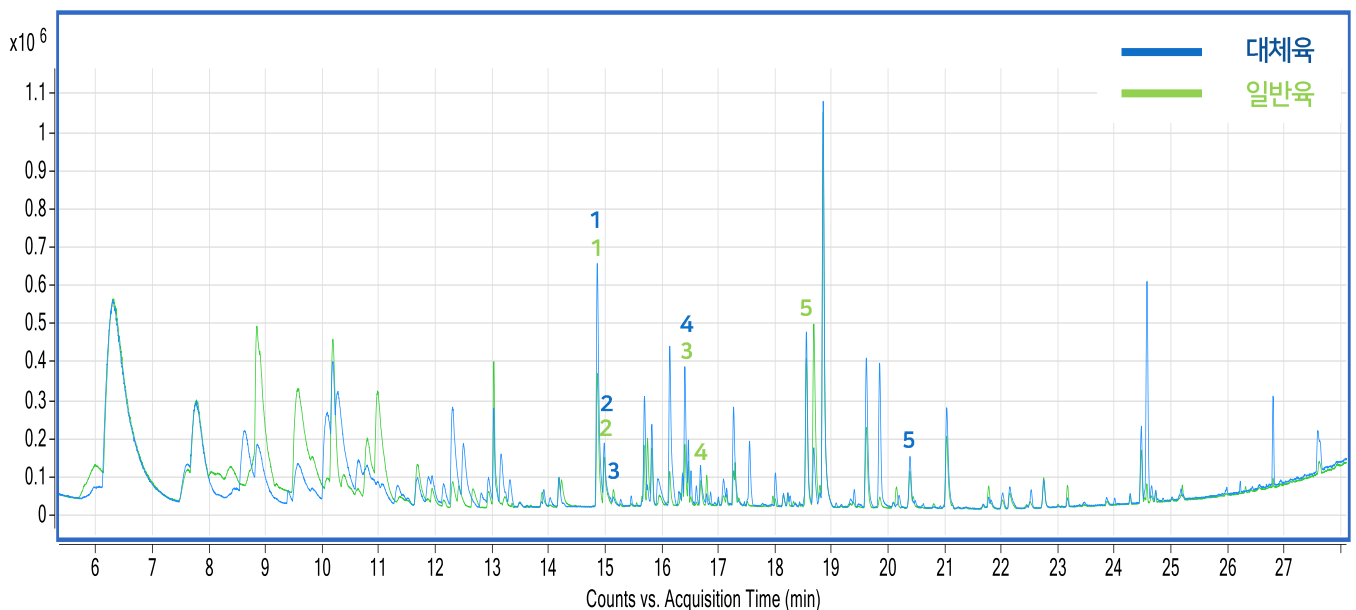
A사 대체육을 Twister 헤드스페이스법으로 분석하였을 때에는 53개의 향 성분과 10개의 성분에서 냄새가 검출되었다<표 2>. 특히, 대체육에서는 일반육에서 검출되지 않았던 Hexanal이 검출되었고, ODP에서 풀냄새로 감지되었다. (E)-2-heptanal과 Methyl heptenone이 검출되었으며, ODP에서 고기 냄새로 검출되었다.

GC-MS		AromaOffice		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	Hexanal	1086	Green grass	풀	2
2	(E)-2-heptenal	1340	Fatty	고기	2
3	Methyl heptenone	1348	Oily	고기	2
4	delta-Elemene	1489	Woody	구운감자	4
5	2-Ethylhexanol	1493	Roasty		
6	Diallyl disulfide	1500	Garlic	시즈닝	1
7	Decanal	1510	Potatoes	감자	1
8	(Z)-2-methenol	1563	Light minty	향긋	1
9	2-furanmethanol	1663	Soup	녹말	2
10	2-Acetylthiazole	1668	Bread		

<표 2> A사 대체육 향 성분 리스트

Delta-Elemene, 2-Ethylhexanol, Diallyl disulfide가 검출되었으며, GERSTEL ODP에서 구운감자 및 시즈닝 냄새로 검출되었다. Decanal도 검출되었는데, ODP에서 감자 냄새로 검출되었다. (Z)-2-methenol이 검출되었고, ODP에서 향긋한 냄새로 검출되었다. 2-furanmethanol, 2-acetylthiazole이 검출되었고 ODP에서 녹말 냄새로 검출되었다.

B사 일반육 vs. 대체육 향 프로파일링 비교



<그림 5> B사 일반육 VS 대체육 향성분 비교 크로마토그램

<그림 5>를 보면, B사 일반육과 대체육을 GERSTEL Twister를 이용한 헤드스페이스법으로 분석한 결과 두 결과 모두 비슷한 추이로 나타났다.

B사 일반육의 분석 결과, 검출된 성분들 중 GERSTEL AromaOffice를 활용하여 51개의 향 성분이 확인되었고, ODP를 통해 5개 성분에서 실제 냄새가 확인되었다.

GC-MS		Aroma Office		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	Dipropyl disulfide	1398	of garlic/onion type	양파	3
2	Nonanal	1405	Stale	양파	2
3	2-Ethylhexanol	1494	Roasty	구운감자	2
4	Decanal	1512	Potatoes	감자	2
5	4-terpineol	1622	Apple	향긋	2

<표 3> B사 일반육향 성분 리스트

A사와 마찬가지로 Dipropyl disulfide, Nonanal, 2-Ethylhexanol이 검출되었다. Decanal이 검출되었으며, ODP에서 감자냄새로 검출되었다. Decanal은 Octanal, Citral, Sinensal과 함께 감귤류, 메밀, 고수 에센셜오일에서 자연적으로 발생하며, 향료에 사용된다. Decanal은 A사 일반육에서도 검출되었으나 ODP에서 실제 냄새로는 검출되지 않았다. B사 일반육에서는 A사에서 검출되지 않았던 4-terpineol이 ODP에서 향긋한 냄새로 검출되었다. 4-Terpineol은 B사 일반육과 대체육에서 모두 검출되었으나, B사 대체육에서 냄새로는 감지되지 않았다. B사 일반육에서는 대체적으로 주로 고기에서 유발되는 Fatty, Oily한 향 성분들이 검출되었다.

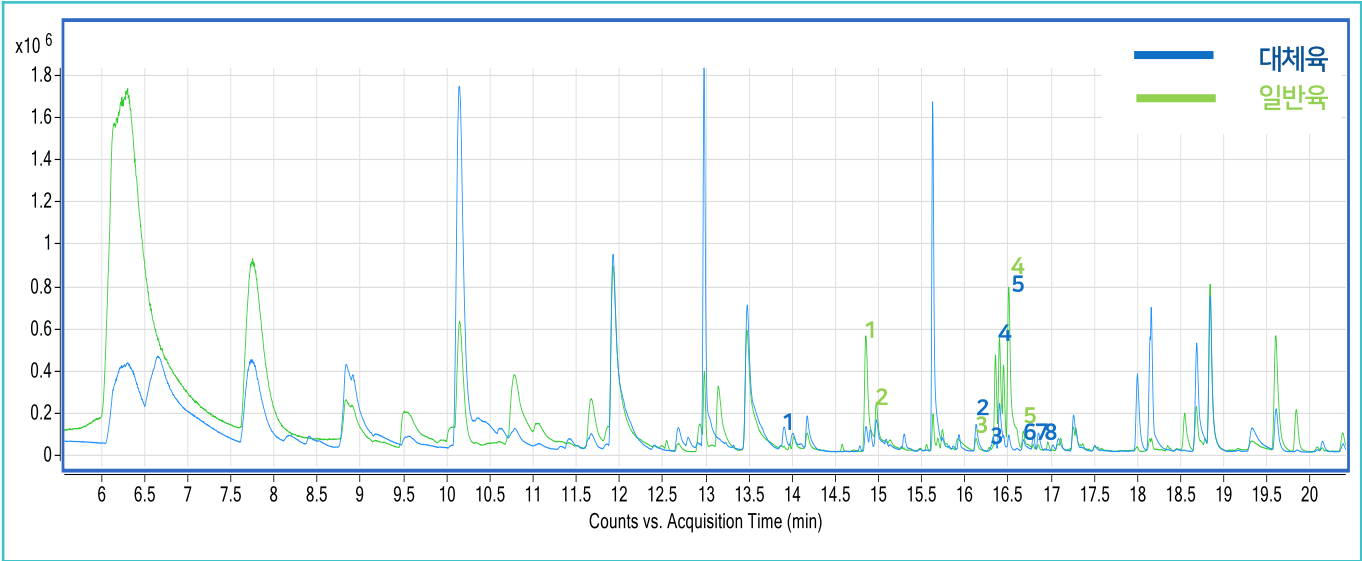
GC-MS		Aroma Office		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	Dipropyl disulfide	1398	of garlic/onion type	양파	2
2	Nonanal	1405	Stale	양파	2
3	2-Ethyl-5-methylpyrazine	1412	Bread-like	시즈닝	2
4	2-Ethylhexanol	1494	Roasty	구운감자	2
5	alpha-Terpineol	1713	Anise	시즈닝	2

<표 4> B사 대체육향 성분 리스트

B사 대체육을 분석한 결과, 검출된 성분들 중 AromaOffice를 통해 51개의 향 성분이 검출되었고 5번의 냄새가 감지되었다. B사 대체육에서는 Aroma office를 통해 Citrus, Berry, Barbecue 등의 시즈닝 향을 가지는 성분들이 확인되었다. 또한 대체육에서 Dipropyl disulfide, Nonanal이 검출되었으며, ODP에서 양파 냄새로 검출되었다. 2-Ethyl-5-methylpyrazine도 검출되었으며, ODP에서 시즈닝 냄새로 검출되었고, 이는 B,C사 대체육에서만 확인되었다. 일반육과 마찬가지로 2-ethylhexanol이 검출되었으며 ODP에서 구운감자냄새로 검출되었다.

A, B, C사 모두 alpha-terpienol도 검출되었는데 이 성분은 향료로 쓰이는 성분으로 달달한 향을 낸다고 알려져 있으며, ODP에서는 시즈닝 냄새로 검출되었다. Alpha-terpineol은 A,B,C사 일반육에서도 검출된 성분이나 대체육 분석 시에만 ODP에서 냄새로 발현되었다.

C사 일반육 vs. 대체육 향 프로파일링 비교



<그림 6> C사 일반육 VS 대체육 향성분 비교 크로마토그램

<그림 6>을 보면, C사 일반육과 대체육을 비교 분석한 결과, 일반육과 대체육의 피크 양상의 차이를 보였다.

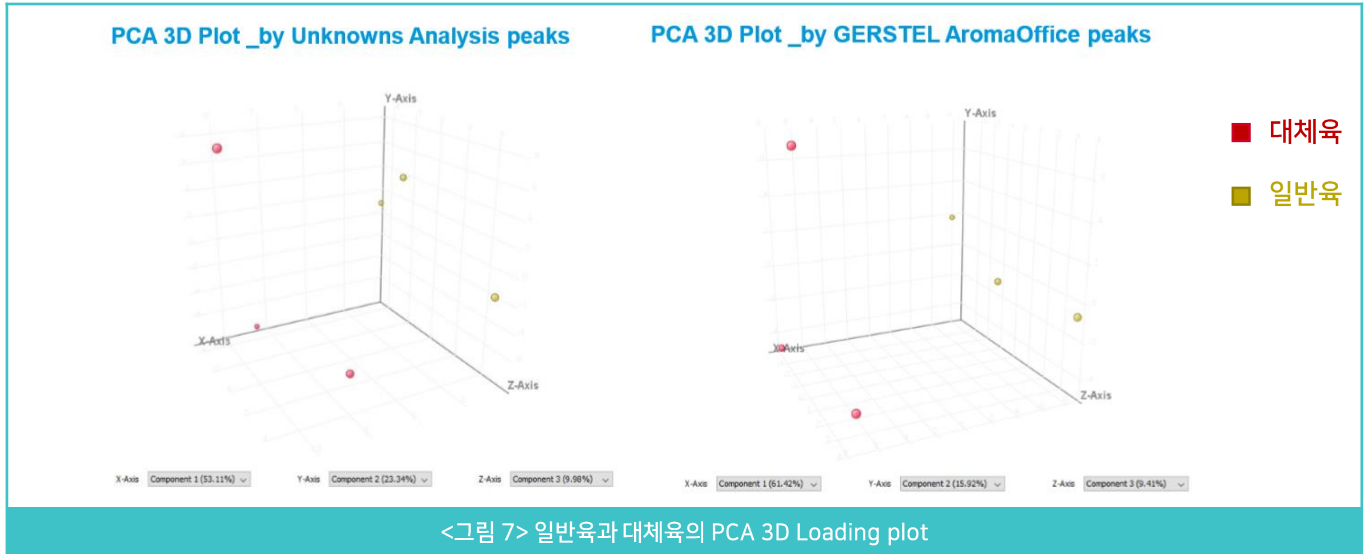
C사 일반육<표 5, 위>을 분석한 결과 GERSTEL AromaOffice를 통해 46개의 향 성분이 확인 되었고, ODP를 통해 5개 성분의 냄새가 검출되었다. C사 일반육에서는 A, B사와 마찬가지로 Dipropyl disulfide, Nonanal이 검출되었다. (E)-sabinene hydrate가 검출되었는데 후추의 매운맛을 내는 화합물 중 하나로 이는 ODP에서 간장냄새로 검출되었다. Diallyl disulfide와 Decanal이 검출되었으며 ODP에서 양념감자냄새로 검출되었다.

GC-MS		Aroma Office		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	Dipropyl disulfide	1398	Of garlic/onion type	양파	3
2	Nonanal	1405	Stale		
3	(E)-sabinene hydrate	1478	Balsamic	간장	3
4	Diallyl disulfide	1500	Garlic	양념감자	1
5	Decanal	1511	Potatoes		

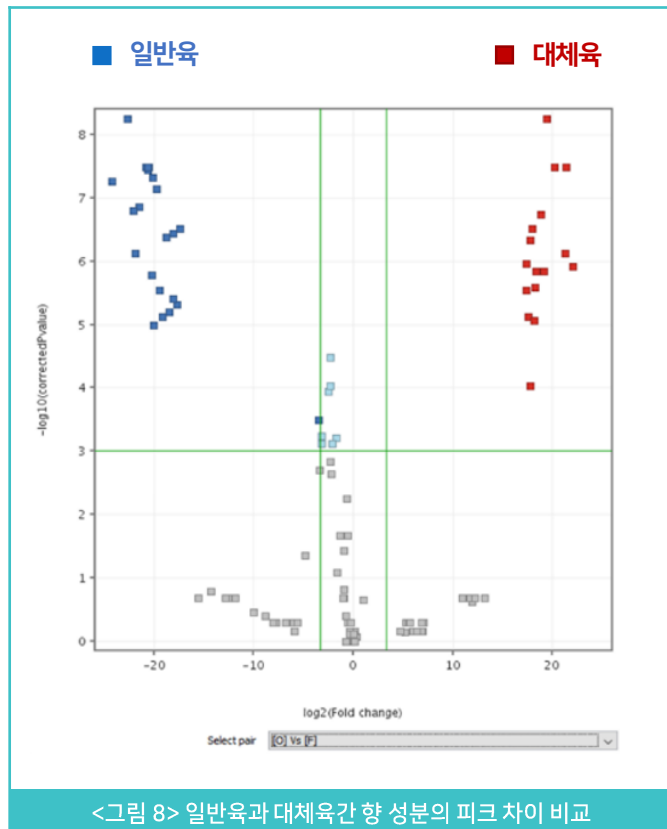
GC-MS		Aroma Office		ODP	
No.	성분명	RI	냄새특성	감지된 냄새	냄새강도
1	2,5-Dimethylpyrazine	1342	Beef stew	고기	2
2	Furfural	1477	Potato	감자	3
3	delta-Elemene	1489	Woody		
4	2-Ethylhexanol	1494	Roasty	양념	2
5	Diallyl disulfide	1501	Garlic		
6	Decanal	1511	Potatoes	감자	1
7	Copaene	1518	Woody		
8	Acetylfuran	1522	Potato	시즈닝	1
9	alpha-Humulene	1703	Balsamic		

<표 5> C사 일반육과 대체육 향 성분 리스트 (위) 일반육 (아래) 대체육

C사 대체육<표 5, 아래>의 경우, AromaOffice를 통해 47개의 향 성분이 확인 되었고, ODP를 통해 9개의 성분이 실제 냄새로 발현되었다. C사 대체육은 2,5-Dimethylpyrazine이 검출되었으며, ODP에서 고기냄새로 감지되었다. A,B사와 마찬가지로 Furfural, delta-Elemene, 2-Ethylhexanol, Diallyl disulfide, Decanal이 검출되었다. Copaene, Acetylfuran이 검출되었으며, ODP에서 감자냄새로 검출되었다. Alpha-Humulene이 검출되었으며 ODP에서 시즈닝 냄새로 검출되었다.



추가로, 이번 실험에 활용된 전처리 기술로 분석한 데이터를 기반으로 Agilent MPP 소프트웨어를 활용하여 주성분 분석(PCA)을 진행하였다. <그림 7>의 왼쪽 그래프는 Agilent MassHunter의 Unknown analysis에서 추출된 성분들을, 오른쪽은 GERSTEL AromaOffice로 Unknown analysis에서 검출된 모든 성분들 중 향 성분만을 추출한 후 Agilent MPP 소프트웨어를 통해 주성분 분석(PCA)을 진행한 결과를 보여준다. 두 PCA 3D Loading plot에서 확인할 수 있듯 X축 방향으로 일반육과 대체육의 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 특히, GERSTEL AromaOffice를 활용하면 검출된 성분들 중 향 성분만 필터링하기 때문에 Unknown analysis보다



Filtering된 결과를 얻을 수 있었으며, 대체육과 일반육이 향미성분에 의해서도 차이가 있음을 확인 할 수 있었다.

<그림 8>은 GERSTEL AromaOffice로 확인된 향 성분들로 PCA 주성분 분석 진행했을 때 유의한 차이를 보이는 피크들을 p-value와 Fold change값으로 구분한 결과를 보여준다. 일반육과 대체육간 큰 차이를 보이는 향미성분은 43개로 확인되었다.

결과 및 토의

일반육과 대체육의 향 비교 프로파일링을 위해 GERSTEL Twister 헤드스페이스법, ODP, AromaOffice를 사용하여 분석이 수행되었다. GERSTEL 솔루션을 활용한 향 분석 결과, 일반육과 대체육의 향 성분 개수를 비교해보았을 때, 일반육보다 대체육에서 향 성분이 더 많이 검출되었다. 일반육에서는 대체육에 비해 양파냄새, 마늘냄새가 더 검출되었으며, 대체육은 일반육에 비해 양념감자, 풀, 녹말, 시즈닝 향이 더 검출되었다. 해당 GERSTEL 향 분석 솔루션 및 Agilent MPP 통계 분석을 통해 일반육과 대체육의 향 차이를 연구하는데 유용하게 활용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 응용 자료의 MPP 통계분석을 위해 도움주신 한국애질런트 담당자 분들께 깊은 감사를 전합니다.

참고 문헌

1. 2022년 한국 대체육 시장 규모와 그 전망, 유로모니터
2. 대체육 구매시 고려요인, 한국농수산물유통공사, 2020
3. The Chemistry of Beef Flavor, M.SUSAN BREWER 2006
4. Flavor and Metabolite Profiles of Meat, Meat Substitutes, and Traditional Plant-Based High-Protein Food Products Available in Australia, Kaczmarska, K.; Taylor, M.; Piyasiri, U.; Frank, D. 2021